

KANDUNGAN ANTIOKSIDAN PADA RUMPUT LAUT *Eucheuma spinosum* YANG DIEKSTRAK DENGAN METANOL DAN ETANOL

(*Antioxidant Activity of Seaweed Eucheuma Spinosum Extracted with Methanol and Ethanol*)

Alindra Podungge¹, Lena J. Damongilala², Hanny W. Mewengkang²

¹⁾ Mahasiswa pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Unsrat Manado

²⁾ Staf pengajar pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Unsrat Manado
Email: alindrainda_podungge@yahoo.com

The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of seaweed Eucheuma spinosum through phytochemical and DPPH test (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). This study utilized 2 solvents i.e. methanol and ethanol with 2 different concentrations (95% and 50%). The analysis included percentage of yields, phytochemical test, and IC₅₀ value from each extract. The highest yield of extract was obtained on the sample extracted with 50% ethanol with the yield value of 1.8%. Phytochemical results showed that samples extracted with 95% methanol had 6 components of antioxidants namely alkaloids, steroids, saponins, terpenoids, polyphenols and flavonoids. The best IC₅₀ value was presented by sample extracted with 95% ethanol (97,522 ppm). Overall, this study demonstrated the effectiveness of fresh Eucheuma spinosum samples as a source of natural antioxidants.

Keyword: Antioxidant, Seaweed, Eucheuma spinosum, Methanol, Ethanol.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan rumput laut *Eucheuma spinosum* melalui uji fitokimia dan uji DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Untuk proses ekstraksi penelitian ini menggunakan 2 pelarut yaitu methanol dan etanol dengan 2 konsentrasi berbeda 95% dan 50%. Analisis yang dilakukan meliputi rendemen, uji fitokimia, dan perhitungan IC₅₀ dari masing-masing ekstrak. Rendemen ekstrak tertinggi diperoleh pada sampel yang diekstrak dengan etanol 50% dengan nilai rendemen sebesar 1,8%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa sampel yang diekstrak dengan methanol 95% memiliki 6 komponen antioksidan yang diuji secara kualitatif (alkaloid, steroid, saponin, terpenoid, polifenol dan flavonoid). Nilai IC₅₀ paling baik diperlihatkan oleh sampel yang diekstrak dengan etanol 95% yaitu sebesar 97,522 ppm. Secara keseluruhan penelitian ini memperlihatkan efektivitas sampel *Eucheuma spinosum* segar sebagai sumber antioksidan alami.

Kata Kunci: Antioksidan, Rumput laut, Eucheuma spinosum, Metanol, Etanol.

PENDAHULUAN

Rumput laut atau algae dikenal dengan nama *seaweed* merupakan bagian terbesar dari tanaman laut. Rumput laut adalah tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun yang sejati dan lebih dikenal dengan nama tumbuhan talus (Berhimpon, 2001). Masyarakat menggunakan rumput laut hanya sebagai sayuran dan bahan yang tidak berbahaya untuk dimakan. Dengan berjalannya waktu, pengetahuan tentang rumput laut pun semakin berkembang. Orang semakin tahu apa yang terkandung dalam rumput laut (Indriani dan Sumarsih 1999). Kandungan utama rumput laut segar adalah air yang mencapai 80–90%, sedangkan kadar protein dan lemaknya sangat kecil. Walaupun kadar lemak rumput laut sangat rendah, susunan asam le-

maknya sangat penting bagi kesehatan. Lemak rumput laut mengandung asam lemak omega-3 dan omega-6 dalam jumlah yang cukup tinggi. Kedua asam lemak ini merupakan asam lemak yang penting bagi tubuh, terutama sebagai pembentuk membran jaringan otak, syaraf, retina mata, plasma darah dan organ reproduksi. Seratus (100) gram rumput laut kering mengandung asam lemak omega-3 berkisar 128–1.629 µg dan asam lemak omega-6 berkisar 188–1.704 µg (Winarno, 1990).

Manfaat lain dari rumput laut yaitu sebagai sumber antioksidan alami, antioksidan berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis. Antioksidan sintesis telah banyak digunakan, namun penggunaan dalam jumlah berlebihan dapat menimbulkan efek samping (Cahyadi, 2006).

Antioksidan primer yaitu sebagai antioksidan utama pemberi atom hidrogen (AH), karena senyawa ini memberikan atom hidrogen secara cepat ke senyawa radikal, dimana radikal yang terbentuk menghasilkan derivat lipida dan radikal antioksidan (A*). Peranannya sebagai donor atom hidrogen pada radikal bebas lemak untuk membentuk kembali molekul lemak. Dengan demikian jika antioksidan diberikan mencegah pembentukan radikal baru, maka akan menghambat proses autooksidasi (Dewanti, 2006; Eitenmiller, 2008).

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non enzimatis atau eksogenus yaitu kelompok senyawa yang berperan dalam system pertahanan preventif. Antioksidan ini dapat mengkelat logam prooksidan dan mendeaktifkannya. Pengkelatan terjadi dalam sistem cairan ekstraseluler. Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan non enzimatis atau eksogenus yaitu kelompok senyawa yang berperan dalam sistem pertahanan preventif. Antioksidan ini dapat mengkelat logam prooksidan dan mendeaktifkannya. Pengkelatan terjadi dalam sistem cairan ekstraseluler.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini sudah dilakukan di Laboratorium Teknologi Penanganan dan Pengolahan Hasil Perikanan dan Laboratorium Pengendalian Mutu Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan untuk pemisahan senyawa antioksidan yaitu ekstraksi dan maserasi, kemudian diuji lanjut Fitokimia dan Kandungan antioksidan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) di Laboratorium FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku *E. spinosum*, akuades, etanol (C₂H₅OH), methanol pa (CH₃OH), n-heksan, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*), HCl, FeCl₃, Mg, kloroform, mayer, wagner, dragondorfft, Asam Asetat Glasial, H₂SO₄.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian: jergen penampung, toples perendam, pompa, kertas saring, aluminium foil, tissue dapur, pisau, gunting, loyang, botol bertutup untuk maserasi, *rotary vacuum evaporator*, timbangan digital, *freeze dryer*, *cabinet dryer*, spectrophotometer UV, lampu UV, *autoclave*, *sentrifuge*, peralatan gelas, *vacuum*, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes dan pipet mikro.

Proses Ekstraksi

Langkah-langkah ekstraksi sampel yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- Rumput laut *E. spinosum* segar dicuci bersih dan ditiriskan.
- E. spinosum* dipotong-potong kecil dan ditimbang sebanyak 500 gr, lalu dimasukkan ke dalam masing-masing toples, kemudian ditambahkan pelarut metanol dan etanol di setiap toples dengan perbandingan 1:1 (w/v).
- Maserasi selama 3x24 jam pada suhu.
- Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring Whatman no. 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu. Filtrat disimpan untuk perlakuan selanjutnya.
- Filtrat dievaporasi dengan *Vakuum rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.
- Ekstrak kental yang diperoleh dihitung persentase rendemen dan selajutnya dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Analisis Data

Hasil pengamatan laboratorium dilakukan 2 cara yaitu pengamatan yang bersifat kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan yang bersifat kualitatif yaitu uji fitokimia yang disajikan dalam bentuk tabel sedangkan kuantitatif data yang diperoleh dari nilai absorbansi untuk uji aktivitas antioksidan selanjutnya dilakukan perhitungan dengan nilai rata-rata dengan menggunakan rumus persen hambatan radikal bebas, lalu menggunakan persamaan regresi, yang hasilnya disajikan dalam bentuk tabel dan kurva.

Parameter Yang Diuji

Parameter yang diuji adalah menghitung rendemen, Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH dan Uji Fitokimia.

Rendemen (AOAC 1995)

Rendemen diperoleh dari perbandingan berat kering gelatin yang dihasilkan dengan berat bahan segar yang digunakan. Pada bahan pangan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin ekonomis bahan pangan. Besarnya rendemen dapat diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Sampel Awal}} \times 100\%$$

Uji Kandungan Fitokimia (Suzery dan Kusri, 2004)

Ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol. 1 ml tiap ekstrak ditambah 5 ml dicampur kloroform dan air suling (1:1) lalu dikocok dan larutan dibiarkan beberapa saat (± 5 menit). Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa steroid dan triterpenoid sedangkan lapisan air untuk pemeriksaan senyawa flavonoid dan saponin.

a. Uji senyawa flavonoid

Lapisan air (± 2 ml) dari tahap preparasi di atas diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1–2 butir logam magnesium dan 3 tetes asam klorida pekat (HCl). Sampel positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna orange hingga merah.

b. Uji senyawa saponin

Lapisan air (± 2 ml) dari tahap preparasi di atas diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian larutan dikocok kuat-kuat. Sampel positif mengandung senyawa saponin apabila terbentuk busa yang permanen yang tidak hilang dalam waktu 15 menit.

c. Uji senyawa alkaloid

Lapisan kloroform ditambahkan 10 tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4) dan dikocok perlahan, dibiarkan sampai terbentuk lapisan asam. Lapisan asam (bagian di bawah cincin bening yang berbentuk dari penambahan asam sulfat) diambil dan ditambah satu tetes pereaksi Meyer. Reaksi positif ditandai dengan kabut putih.

d. Uji senyawa steroid dan triterpenoid

Lapisan kloroform dari tahap preparasi diambil dan dimasukkan ke pipet Pasteur yang didalamnya sudah ada arang. Filtrat yang sudah keluar dari pipet Pasteur dimasukkan ke dalam 3 buah lubang pada plat tetes ditambahkan satu tetes asam asetat anhidrat ($(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$) dan satu tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4). Sampel positif mengandung senyawa steroid ditunjukkan dengan warna biru sampai ungu sedangkan sampel positif mengandung senyawa triterpenoid jika ditunjukkan dengan warna merah.

e. Uji senyawa fenolik

Lapisan air dari tahap preparasi di atas diambil dan dimasukkan ke dalam plat tetes. Kemudian ferri klorida pada tiap plat tetes yang telah diberi sampel. Adanya senyawa

fenolik ditandai dengan terbentuknya warna biru atau ungu.

Uji DPPH (Banerjee dkk., 2005)

Sampel ekstrak dengan berbagai konsentrasi (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 dan 400 ppm) diambil sebanyak 3 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah dibungkus aluminium foil kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,004%. Larutan dikocok sampai homogen dan dibiarkan selama 30 menit dalam suhu ruang.

Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Nilai persentase inhibisi (penghambatan) yang diwakili oleh nilai C_{50} dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs Ekstrak}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma spinosum*

Nilai rendemen ekstrak rumput laut *E. spinosum* dengan 2 jenis pelarut yaitu metanol dan etanol dengan konsentrasi masing-masing yaitu 50% dan 95%. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pelarut etanol dan metanol 50% mampu menghasilkan rendemen ekstrak *E. spinosum* tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi pelarut etanol dan metanol 95%. Hasil rendemen ekstrak *E. spinosum* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen dari Masing-Masing Sampel *Eucheuma spinosum*.

Ekstrak	Warna (Ekstrak Pekat)	Rendemen (%) Ekstrak
Metanol 50%	Merah Muda	1,6 %
Metanol 95%	Hijau	1,2 %
Etanol 50%	Merah Muda	1,8 %
Etanol 95%	Hijau	1,2 %

Hasil sampel ekstrak *E. spinosum* diperoleh dari selisih berat awal rumput laut 1.500gr. Kemudian dilakukan evaporasi mendapatkan hasil masing-masing yaitu Metanol 50%=23,75 gr, metanol 95%=17,71gr, etanol 50%=27,67 gr, etanol 95%=18,51gr. Setelah mendapat hasil berat awal dan hasil berat setelah dievaporasi dilakukan perhitungan rendemen dan menghasilkan berat metanol 50%=1,6%, metanol 95%=1,2%, etanol 50%=1,8% dan etanol 95%=1,2%.

Kasminah (2016) nilai rendemen ekstrak *Halymenia durvillaei* dengan berbagai pe-

larut, terdapat tiga jenis pelarut yaitu etanol, etil asetat dan n-heksan. Pelarut etanol mampu menghasilkan rendemen ekstrak *H. durvillaei* tertinggi dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksan. Hasil rendemen ekstrak *H. durvillaei* pelarut etanol=0,4142%, pelarut etil asetat=0,1085%, dan n-heksan=0,0208%. Hasil rendemen ekstrak *H. durvillaei* diperoleh dari selisih berat ekstrak dengan berat simplisia *H. durvillaei*. Berat simplisia awal rumput laut *H. durvillaei* adalah 200 gr.

Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum*

Aktivitas antioksidan dari *E. spinosum* menggunakan dua jenis pelarut yaitu metanol dan etanol ditandai dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan dalam konsentrasi larutan sampel untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH yang memiliki IC₅₀ dari aktivitas antioksidan terkecil, berarti memiliki aktivitas antioksidan besar. Hasil IC₅₀ dapat dilihat pada tabel 2.

Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut segar yang menggunakan pelarut metanol dan etanol dengan konsentrasi masing-masing menghasilkan Nilai IC₅₀ tertinggi pada ekstrak yang menggunakan pelarut etanol.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Penghambatan Radikal Bebas.

Sampel (%)	Konsentrasi (ppm)	IC ₅₀
Metanol 50	50, 100, 150, 200, 250	223,305
Metanol 95	50, 100, 150, 200, 250	238,128
Etanol 50	50, 100, 150, 200, 250	113,882
Etanol 95	50, 100, 150, 200, 250	97,522

Menurut Damongilala (2014) hasil analisis data penghambatan radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa pada semua kondisi sampel *Eucheuma* sp terdapat perbedaan nilai DPPH ($p < 0,05$) pada konsentrasi pelarut metanol. *E. spinosum* segar memiliki nilai DPPH tertinggi diantara ke empat sampel yaitu *E. spinosum* segar, kering dan *E. cottoni* segar, kering pada kondisi sampel, yaitu sebesar $75,27 \pm 0,29\%$ pada konsentrasi pelarut metanol 60% menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal DPPH dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi ekstrak.

Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Laut

Hasil penelitian terhadap uji fitokimia ekstrak *E. spinosum* dengan pelarut etanol dan

metanol pada konsentrasi masing-masing 50 dan 95%, menunjukkan keberadaan komponen senyawa yang terkandung.

Tabel 3. Uji Fitokimia Senyawa Aktif Pada Ekstrak Alga Merah *Eucheuma spinosum*.

Golongan Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Metanol 50%	Metanol 95%	Etanol 50%	Etanol 95%
Alkaloid	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	-
Terpenoid	-	+	-	-
Polifenol	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+

Ket.: + = Mengandung golongan senyawa.

- = Tidak mengandung senyawa.

Hasil uji fitokimia ekstrak *E. spinosum* dengan pelarut metanol dan etanol. Pada konsentrasi etanol 50% dan 95% menghasilkan (+) atau terbentuknya warna pada golongan senyawa alkaloid, steroid, polifenol, flavonoid. Sedangkan pada konsentrasi metanol 50% menghasilkan (+) pada golongan senyawa alkaloid, steroid, saponin, polifenol, flavonoid dan pada konsentrasi 95% menghasilkan (+) dari keenam golongan senyawa yang diuji yaitu alkaloid, steroid, saponin, terpenoid, polifenol, flavonoid.

Hasil uji fitokimia diskriminasi dan didapatkan tanin, terpenoid, steroid dan alkaloid pada ekstrak sampel seaweed *Ulva fasciata* dan *Chaetomorpha antennina*. Pada alga hijau *U. reticulate* Forskal menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid dalam ekstrak yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu-merah pada sediaan setelah ditambahkan pereaksi Lieberman Bouchard (Tamat dkk., 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Hasil sampel ekstrak rumput laut *Eucheuma spinosum* diperoleh dari selisih berat awal rumput laut 1.500gr. Kemudian dilakukan evaporasi mendapatkan hasil masing-masing yaitu Metanol 50%=23,75 gr, metanol 95%=17,71gr, etanol 50%=27,67 gr, etanol 95%=18,51 gr. Setelah mendapat hasil berat awal dan hasil berat setelah dievaporasi dilakukan perhitungan rendemen dan menghasilkan berat metanol 50%=1,6%, metanol 95%=1,2%, etanol 50%=1,8% dan etanol 95%=1,2%.
- Aktivitas antioksidan pada rumput laut *Eucheuma spinosum* menggunakan 2 jenis pelarut yaitu metanol dan etanol pada konsen-

trasi masing-masing 50% dan 95% ditandai dengan nilai IC_{50} , metanol 50%=223,305, metanol 95%=238,128, etanol 50%=113,882 dan etanol 95%=97,522.

3. Hasil uji fitokimia ekstrak rumput laut *Eucheuma spinosum* dengan pelarut metanol dan etanol. Pada konsentrasi etanol 50% dan 95% menghasilkan (+) atau terbentuknya warna pada golongan senyawa alkaloid, steroid, polifenol, flavonoid. Sedangkan pada konsentrasi metanol 50% menghasilkan (+) pada golongan senyawa alkaloid, steroid, saponin, polifenol, flavonoid dan pada konsentrasi 95% menghasilkan (+) dari keenam golongan senyawa yang di uji yaitu alkaloid, steroid, saponin, terpenoid, polifenol, flavonoid.

Saran

Diharapkan agar dapat dilakukan penelitian selanjutnya tentang kandungan antioksidan pada rumput laut *Eucheuma spinosum* kering dengan konsentrasi 50% dan 95% yang di ekstrak dengan pelarut methanol dan etanol .

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC.1995. *Offical Methods of Analysis of The Association of Offical Analytical Chemists*. Washington.
- Banerjee, A., N. Dasgupta and B. De. 2005. *In Vitro Study Of Antioxidant Activity of syzigium Cumini Fruit*. Journal Food Chemistry 90.727-733.
- Berhimpon, S. 2001. Industri pangan hasil bernilai tinggi (*Valuable Commodities*) salah satu unggulan agroindustri Sulawesi Utara. Makalah yang dipresentasikan pada seminar Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) Manado, 25 Januari 2001.
- Cahyadi. W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara.
- Damongilala. J. L, 2014. Karakteristik Senyawa Antioksidan Alga *Eucheuma Cotonii* dan *Eucheuma spinosum* Dari Perairan Pulau Nain Sulawesi Utara. Pasca Sarjana Universitas Brawijaya Malang. [Disertasi]. Malang
- Dewanti, Tri., 2006. Alternatif Pengganti Formalin Pada Produk Pangan. Jakarta. Gramedia Pustaka.
- Indriani, H. dan Sumarsih, E. 1999. Budidaya Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Rumput Laut *Halymenia durvillaei* Dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar Dan Polar. Universitas Airlangga Surabaya.
- Suzery, M. dan D, Kusri. 2004. Buku Ajar Pemisahan dan Analisis Bahan Alam. FMIPA, UNDIP, Semarang, 131 hlm.
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata Forsskal*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5 (1): 31–36.
- Winarno F.G. 1990. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama